

## Patent Abstracts of Japan

PUBLICATION NUMBER : 04326054  
PUBLICATION DATE : 16-11-92

APPLICATION DATE : 26-04-91  
APPLICATION NUMBER : 03097160

APPLICANT : YAZAKI CORP;

INVENTOR : IIZUKA HIROSHI;

INT.CL. : G01N 27/327 C12Q 1/26

TITLE : GLUCOSE SENSOR

ABSTRACT : PURPOSE: To enable a defect where glucose detection characteristics are changed by concentration of oxygen within a liquid to be measured to be eliminated and obtain a safe glucose sensor which does not use a mediator with a problem in terms of its safety.

CONSTITUTION: A glucose sensor is provided with a glucose detection electrode consisting of an electrode body which allows a porous formation body of a mixture of conductive carbon and fluorine plastic to carry an oxidized reduction catalyst, a hydrophobic oxygen permeability film which is adhered to a rear surface of the electrode body, and a hydrophilic glucose oxidization enzyme fixing film which is adhered to a front surface of the electrode body, thus enabling glucose to be detected safely without requiring any operation for increasing concentration of oxygen in a solution to be measured.

COPYRIGHT: (C)1992,JPO&Japio

© WPI / DERWENT

- 0377 8310.6 (D3) Copy for appl. cat.
- AN - 1992-429284 [52]
- TI - Glucose sensor for continuous measurement, in medium for anaerobic culture and blood measurement - has conductive carbon@ and fluoro:resin mixt., oxygen@-permeable membrane on back of member and glucose oxidase-immobilised membrane on front
- AB - J04326054 Sensor has a glucose (I)-detecting electrode comprising (i) electrode member contg. a porous moulding mixt. of a conductive C and a fluoro:resin, (ii) hydrophobic oxygen-permeating membrane adhered to the back of the electrode member and (iii) a hydrophilic (I)-oxidase-immobilised membrane adhered to the front of the electrode member.
- USE/ADVANTAGE - Sensor can measure the oxygen concn. with no feed of oxygen. Used for a continuous measurement of (I) concn. in a medium used for anaerobic culture and also for the measurement of blood (I) value in a living body.
  - In an example, 100 wt. pts. C black powder is mixed with 50 pts. wt. of tetrafluoroethylene resin powder and hot pressed at 300-400 deg.C under a pressure of 100-300 kg/cm<sup>2</sup> from both sides of a 20 mesh CVD net to give a porous electrode of 0.5 mm thickness. 1% aq. Pt chloride soln. is applied on the front of it and reduced by heating it in a H<sub>2</sub> flame. Fine porous tetrafluoroethylene resin membrane of 25 microns is pressed on the back to make it hydrophobic. Leadwire is attached to the back of the electrode using a Ag paste adhesive, electrode equipped to the end of a glass tube of 4 mm outer dia. and the wire passed through the tube. Glass tube is inserted to a Ag-plated stainless steel tube (5 mm inner dia.) as the opposite electrode and the gap is filled with an insulative adhesive. Bovine serum albumin is dissolved in 0.1 M Na phosphate buffer to 6% and 0.5 ml of the soln. is fed in a glass dish and 0.1 ml 2.5% polymer-free glutaraldehyde is added and 50 microl of a soln. of 30 mg (I) oxidase in 10 cc 0.1 M Na phosphate buffer is added. When the viscosity of the mixt. is increased just before solidified, the above electrode is dipped in it and then pulled out to form an enzyme-immobilised membrane of ca. 100 microns thickness. Sensor obtd. shows a good response characteristics to (I) even at a lower oxygen concn. or in the absence of oxygen. 4pp Dwg.No.0/0)
- IW - GLUCOSE SENSE CONTINUOUS MEASURE MEDIUM ANAEROBIC CULTURE BLOOD MEASURE CONDUCTING CARBON@ FLUORO RESIN MIXTURE OXYGEN@ PERMEABLE MEMBRANE BACK MEMBER GLUCOSE OXIDASE IMMOBILISE MEMBRANE FRONT
- PN - JP4326054 A 19921116 DW199252 G01N27/327 000pp
- IC - C12Q1/26 ; G01N27/327
- MC - B04-B02C2 B04-B04D5 B05-C08 B10-A07 B11-C08B B12-K04A J04-B01
- DC - B04 J04
- PA - (YAZA ) YAZAKI CORP
- AP - JP19910097160 19910426
- PR - JP19910097160 19910426

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平4-326054

(43) 公開日 平成4年(1992)11月16日

(51) Int. Cl. <sup>3</sup>	識別記号	庁内整理番号	F J	技術表示箇所
G 0 1 N 27/327		6807-4B		
C 1 2 Q 1/26		7235-2 J	G 0 1 N 27/30	3 5 3 J
		7235-2 J		3 5 3 B

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全 4 頁)

(21) 出願番号	特願平3-87160	(71) 出願人	000006885 矢崎産業株式会社 東京都港区三田1丁目4番28号
(22) 出願日	平成3年(1991)4月26日	(72) 発明者	須藤 雅夫 静岡県浜松市広沢1-22-12
		(72) 発明者	飯塚 弘 静岡県浜松市子安町1370 矢崎産業株式会社内
		(74) 代理人	弁理士 池野 秀雄 (外1名)

(54) 【発明の名称】 グルコースセンサ

(57) 【要約】

【目的】 本発明は、グルコース検知特性が被測定液中の酸素濃度によって変化する欠点を解消するとともに安全性に問題のあるメディエータを使用しない、安全なグルコースセンサを提供することを目的とした。

【構成】 本発明のグルコースセンサは、導電性炭素と非素樹脂との混合物の多孔質成形体に酸化還元触媒を担持させた電極体と、該電極体の背面に接着した疎水性の酸素透過膜と、該電極体の前面に接着した親水性のグルコース酸化酵素固定膜とからなるグルコース検知電極を備えてなるものである。

【効果】 これにより、測定対象の溶液の酸素濃度を高める操作を必要とせず、安全にグルコースの検出ができるようになった。

(2)

特開平4-326054

I

2

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 導電性炭素と弗素樹脂との混合物の多孔質成形体に酸化還元触媒を担持させた電極体と、該電極体の背面に接着した疎水性の酸素透過膜と、該電極体の前面に接着した親水性のグルコース酸化酵素固定膜とからなるグルコース検知電極を備えたことを特徴とするグルコースセンサ。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は水性液体中に溶存するグルコースを検知して電気信号として出力し、グルコースの濃度を測定するためのセンサに関する。

## 【0002】

【従来の技術】 従来から、糖類を基質とする醗酵プロセスにおける培地中の糖含有量の測定や血糖値の測定などを行なうに際してグルコースセンサが用いられている。こうしたグルコースセンサの多くはグルコース酸化酵素を固定化した酵素電極であって、グルコースと酸素との反応により生成した過酸化水素の濃度変化量、あるいは消費された酸素の濃度変化量を電気化学的に電気出力に変換し、検出するものであった。

【0003】 かかる従来公知のグルコースセンサは、例えば板状または針状の固体電極の表面を固定化酵素膜で被覆し、更にグルコースや酸素などの低分子のみを透過する選択透過膜で被覆した構造を持つものである。そしてこのようなグルコースセンサは酸素及びグルコースが被覆膜内を拡散透過して酵素反応をするものであるため、グルコースの濃度測定を行なうにあたっては測定に入る前に試料に対して空気のバブリングなどを行ない、試料の水性液体中に十分な溶存酸素を存在させることが必要とされていた。

【0004】 しかし、多数の試料を迅速に測定することが必要とされるオンラインの計測などに際しては、この前処理操作の非効率性が問題となっていた。そしてまた、嫌気性醗酵における培地中のグルコースの濃度測定を行なう場合や人工臓器システムに使用される皮下埋め込み型のグルコースセンサを使用する場合には、酸素の供給を行なうことが困難であって応答感度が極めて低下し、場合によっては測定不可能となることが多かった。

【0005】 そこで酸素の供給を行なわなくてもグルコースの検知を可能とするために、グルコース酸化酵素の補酵素を再生するためのメディエータとして、例えばフェロセン、p-ベンゾキノン等の有機性の酸化剤や、沃素等の無機性の酸化剤などを用いることが提案されている。しかしこのようなメディエータは酵素固定膜内から脱離する傾向があり、センサの保存性がよくないばかりでなく、生体内に注入された場合の毒性が懸念される。また、

て、本発明は従来のグルコースセンサの欠点である酸素濃度依存性を解消するとともに、問題のあるメディエータを使用しない安全なグルコースセンサを提供することを目的としたものである。

## 【0007】

【課題を解決するための手段】 上記の目的を達成するため、本発明のグルコースセンサは、導電性炭素と弗素樹脂との混合物の多孔質成形体に酸化還元触媒を担持させた電極体と、該電極体の背面に接着した疎水性の酸素透過膜と、該電極体の前面に接着した親水性のグルコース酸化酵素固定膜とからなるグルコース検知電極を備えたものである。

【0008】 本発明における電極体は、例えば導電性カーボンブラック等の炭素粉末と例えば4フッ化エチレン樹脂粉末との混合物を高圧でプレス成形する方法で製造することができる。この際、電極体の導電性と機械的強度とを高めるために内部に金属網などを充填してもよい。こうして得た多孔質成形体には、例えば白金等の貴金属化合物の溶液を塗布するなどしたのち還元して、酸化還元触媒を担持させた電極体とすることが好ましい。

【0009】 更に、この電極体の背面側には、例えば4フッ化エチレン樹脂薄膜等の疎水性であって酸素透過性の膜を圧着する等によって設け、また電極体の前面側にはグルコース酸化酵素固定膜を設ける。このグルコース酸化酵素固定膜は、公知の方法【例えば、須藤雅夫ら、化学工学論文集、17巻、p.199 (1991)】によって作成されたもの、すなわちグルタルアルデヒドで架橋した牛血清アルブミンにグルコース酸化酵素を担持した膜などを利用することができる。

【0010】 このようにして作成されたグルコース検知電極は、電極体の一部に引出し線または端子を取付けたうえ、背面が大気と接触し、かつ前面が試料液に接触するような構造に組み立て、例えば電極などの対極と組み合わせて、本発明のグルコースセンサが得られる。

## 【0011】

【作用】 本発明のグルコースセンサは、試料液に浸漬したときにグルコース検知電極の前面からグルコースが酵素固定膜内を拡散し、背面から拡散してきた酸素と酵素反応をして過酸化水素が生成する。この過酸化水素は酵素固定膜内を拡散して電極体に達し、金属触媒によるアノード反応によって酸素と水とに分解し対極との間に電流を生ずるから、この電流を検出することによりグルコース濃度を測定することができる。一方、発生した酸素は電極体内を拡散して酵素固定膜に達し、再びグルコースの酸化にあずかることとなる。

## 【0012】

(3)

特開平4-326054

3

ンカブラック) 100重量部と4弗化エチレン樹脂粉末(ダイキン工業製、ポリフロンTFE) 50重量部とを混合し、20メッシュの銅金網を挟んで100~300 kg/cm<sup>2</sup>、300~400℃でホットプレスし、厚さ0.5mmの多孔質電極体を作成した。

【0013】更にこの前面に1%の塩化白金水溶液を塗布したのち水素炎中で加熱して還元し、金属白金を析出させて酸化還元触媒担持電極体とした。また背面には厚さ25μmの微多孔性4弗化エチレン樹脂膜を圧着して疎水性処理をした。

【0014】こうして得た多孔性電極体の背面に銀ペースト接着剤を用いてリード線を取付け、このリード線を外径4mmの硝子管の中を通すようにして電極体を硝子管の先端内に装着したうえ、硝子管ごと対極としての銀鍍金したステンレス管(内径5mm)の中に挿入し、空隙を絶縁性接着剤で充填した。

【0015】一方、牛血清アルブミン(シグマ社)をpH5.6の0.1モル磷酸ナトリウム緩衝溶液に6%となるように溶解した液の0.5mlをガラス皿に取り、これに対して活性炭により重合体を除去した2.5%グルタルアルデヒド0.1mlを加え、更にグルコース酸化酵素(ベーリンガー社、グレードII) 30mgを10ccのpH5.6の0.1モル磷酸ナトリウム緩衝溶液に溶解した液を50μl加えてすばやく混合した。この混合液の粘度が高まって固まりかけたときに前記の電極を液中加入し、表面に付着させた後引き上げて乾燥することを反復して、厚さ約100μmの酵素固定膜を形成した。こうして作成した本発明のグルコースセンサは、乾燥を防ぐためにpH5.6の0.1モル磷酸ナトリウム緩衝溶液中に浸漬して保存した。こうして緩衝溶液中で膨潤した酵素固定膜の厚さは、乾燥時の120~150%程度となった。

【0016】(対照例) 直径1mmの白金線を先端面が露出するように外径4mmの硝子管の先端内に装着したうえ、硝子管ごと対極としての銀鍍金したステンレス管(内径5mm)の中に挿入し、空隙を絶縁性接着剤で充填した。

【0017】次いで白金線の先端面を平滑に研磨したのち、実施例と同様にしてグルコース酸化酵素担持膜を被着し、対照のグルコースセンサを得た。このセンサも実施例と同様の磷酸ナトリウム緩衝溶液中に浸漬して保存

した。

【0018】(試験例) 2.0~100mol/m<sup>3</sup>の間の糖々の濃度でグルコースを含むpH5.6の0.1モル磷酸ナトリウム緩衝溶液をそれぞれ用意し、酸素濃度の異なる窒素と酸素の混合ガスを通気して、溶存酸素濃度がそれぞれ0.99mol/m<sup>3</sup>、0.21mol/m<sup>3</sup>及び0.0mol/m<sup>3</sup>となるように調整した。

【0019】308Kに調整したこれらの試験溶液にグルコースセンサを浸漬して、グルコース検知電極の電位を銀対極に対して+0.7Vとなるようポテンシオスタットにより設定し、両極間を流れる電流値を計測した。これらの計測値から各溶存酸素濃度レベル毎にグルコース濃度に対する電流値の関係を求めて応答曲線を得た。本発明の実施例のグルコースセンサの応答曲線を図1に、また対照例のグルコースセンサの応答曲線を図2にそれぞれ示した。

【0020】この結果をみると、対照例のグルコースセンサは溶存酸素濃度が変化するとグルコースに対する応答特性も変化し、溶存酸素が零となると全く応答なくなるのに対して、本発明のグルコースセンサにおいては、溶存酸素濃度が低い場合または全く酸素がない場合でもグルコースに対する良好な応答特性を有しており、グルコース濃度が概ね30mol/m<sup>3</sup>まではセンサー電流が比例的に変化し、またそれ以上でも100mol/m<sup>3</sup>までは電流値が飽和する傾向にあるものの、測定は可能であることがわかった。

【0021】

【発明の効果】本発明のグルコースセンサは、測定対象の溶液に酸素の供給を行わなくても電極の背面から酸素が供給されるので、グルコース濃度の検出を支援なく行なうことができる。従って、酸素の供給が無害である場合はもちろんのこと、酸素の供給を行なうことができない場合にもグルコースの検出ができる。更に嫌気性培養に用いる培地中の糖濃度の連続的計測や人工すい臓システムの展開等の生体系内での血糖値測定などを行なうことが可能となった。

【図面の簡単な説明】

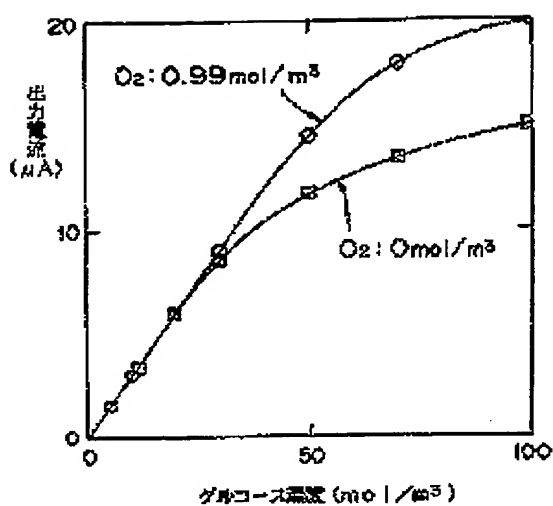
【図1】本発明のグルコースセンサの応答曲線を示すグラフである。

【図2】対照例のグルコースセンサの応答曲線を示すグラフである。

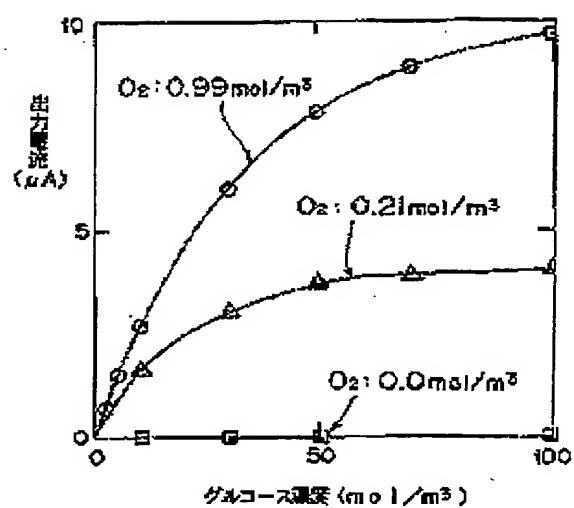
(4)

特開平4-326054

【図1】



【図2】



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☒ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**